

contexto, o FAN com padrão nucleolar homogêneo – além de indicativo de neoplasia em atividade – é altamente específico para autoimunidade. Ademais, um importante diagnóstico diferencial é a artrite gotosa por hiperuricemia secundária. Nesse contexto, o eritema nodoso predomina em membros inferiores e pode ser uma manifestação paraneoplásica de tumores hematológicos e sólidos, que possivelmente precede a doença de base. A lesão no braço esquerdo – que regrediu totalmente após o início de tratamento – é uma manifestação dermatológica rara de LMMC, cujo mecanismo é uma reação de hipersensibilidade tardia, do tipo IV. Vale destacar que tais manifestações cutâneas podem, inclusive, preceder os sinais iniciais de linfomas, leucemias e tumores sólidos. **Conclusão:** O presente relato ilustra uma apresentação rara e complexa da LMMC e destaca a relevância de considerar manifestações clínicas atípicas, como a poliartralgia e massas cutâneas, no diagnóstico diferencial. A remissão completa do quadro ao tratamento com agentes alquilantes ressalta a importância do diagnóstico e tratamento adequados. Além disso, a associação aqui descrita revela a importância da avaliação abrangente em pacientes com sintomas incomuns, contribuindo para um melhor entendimento e manejo dessa doença rara.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.781>

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE PRIMERS PARA ANÁLISE DAS PRINCIPAIS REGIÕES DE MUTAÇÕES DO TIPO DUPLICAÇÃO INTERNA EM TANDEM DE FLT3, ASSOCIADAS COM NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS

GPZ Bemvides, SPE Silva, IJLD Santos,
JR Pattaro-Júnior, LCM Motta, QA Lima-Neto,
JEL Visentainer

Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá,
PR, Brasil

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi desenvolver iniciadores específicos para amplificação em metodologia baseada em PCR, para detectar as mutações FLT3-ITD no gene FLT3, que são associadas às neoplasias mieloproliferativas. **Materiais e métodos:** Os primers forward e reverse foram construídos. Para tal, foi realizada a busca da sequência FASTA no Banco de Dados de Genomas (GeneBank) do NCBI para certificação de que os primers flanqueariam as regiões mutadas do gene de interesse. As melhores sequências de iniciadores foram avaliadas por meio dos softwares Primer-BLAST, Multiple Primer Analyzer e OligoAnalyzer, que permitiram determinar a temperatura de melting adequada, entre 50 e 65°C, em que metade do primer está anelado à fita molde, a proporção de citosina/ guanina (50-60%) e a formação de fragmentos de DNA inespecíficos, como self-dimer, hetero-dimer e hairpin. Depois da aprovação do Comitê Permanente de Ética em Pesquisas Envolvendo Seres Humanos da UEM, e com aceite do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, amostras de sangue periférico de pacientes diagnosticados com neoplasias mieloproliferativas foram coletadas em tubos EDTA e o DNA foi extraído com o kit comercial QIAamp DNA Blood Mini (Qiagen®, USA), de

acordo com os protocolos recomendados pelo fabricante. A concentração e a qualidade de todos os DNAs preparados foram analisadas, em equipamento Nanodrop 2000 (ThermoFisher®, USA). Posteriormente, os primers foram otimizados em reação de PCR quanto à melhor temperatura de anelamento, concentração de MgCl₂, tempo de extensão, rendimento da reação, tamanho do amplicon e especificidade em eletroforese em gel de agarose 2% corado com SybrSafe (Invitrogen®, USA). **Resultados:** Dois pares de primers foram padronizados para PCR convencional, os quais foram nomeados como FLT3-ITD1, primeiro par de primer para mutação ITD em FLT3, e FLT3-ITD2, segundo par de primer. **Discussão:** Várias reações foram realizadas para que o melhor resultado possível fosse atingido, ao final, ambos os pares amplificaram a região de interesse, mas somente o par 1 foi capaz de amplificar FLT3-ITD, enquanto um par de primer controle amplificou HGH, na mesma reação. As condições de PCR com volume final de 20 µL foram: 1 x PCR buffer (0.1M Tris-HCl pH 8.8; 0.5 M KCl), 0,25 mM de dNTP Mix, 0,25 mM primers (FLT3 e HGH), 1,9 mM de MgCl₂, 0,5 U de Taq DNA-Polymerase e, aproximadamente, 50 ng/µL de DNA, em uma temperatura de anelamento de 58°C, confirmada após realização de gradiente de temperatura. Todas as reações foram confirmadas em gel de agarose 2% corado com SybrSafe (Invitrogen®, USA), em uma corrida eletroforética de 100V, 300mA, 150W, por 20 minutos, e visualizadas e documentadas em fotodocumentador. **Conclusão:** Os primers para amplificação de regiões com mutações ITD em FLT3, associadas às neoplasias mieloproliferativas, foram construídos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.782>

PERFIL SECRETÓRIO DAS CÉLULAS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES EM MODELO ANIMAL DE NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA PH-

IEG Pereira^a, MC Cacemiro^a, JG Cominal^a,
MGB Coelho^a, CLA Silva^b,
LL Figueiredo-Pontes^{b,c}, FA Castro^a

^a Departamento de Análises Clínicas, Toxicologia e
Ciência de Alimentos, Faculdade de Ciências
Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP),
Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP,
Brasil

^b Centro de Terapia Celular, Fundação Hemocentro
de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de
São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Divisão de Hematologia, Hemoterapia e Terapia
Celular, Departamento de Imagem Médica,
Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de
São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: As neoplasias mieloproliferativas (NMP) são doenças hematopoéticas clonais adquiridas, caracterizadas por aumento das células maduras e precursoras oriundas de uma ou mais linhagens mieloides. Apesar dos conhecimentos acumulados, sobre a patogênese das NMPs, na última década,